

ВЛИЯНИЕ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ НА ИНГИБИТОРНЫЕ ЭФФЕКТЫ ПУРИНОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ СТРЕССОВОГО СОСТОЯНИЯ

Гиниатуллин А.Р., Гришин С.Н., Гиниатуллин Р.А.

Государственный медицинский университет, г. Казань

Введение

Влияние стероидных гормонов на ткани-мишени может реализовываться как по классическому варианту взаимодействия с цитоплазматическими рецепторами с последующей передачей сигнала в ядро и генетический аппарат, либо путем непосредственного влияния на состояние биологических мембран (6). Стероидный гормон группы кортикостероидов, гидрокортизон может оказывать как пре-, так и постсинаптические эффекты (3). Большинство исследователей отмечали облегчающий эффект этого соединения в периферическом нервно-мышечном аппарате (2, 5). Облегчающий эффект гидрокортизона хорошо согласуется с представлением о мобилизующей роли кортикостероидов во время стрессовых реакций. Противоположным по функциональному значению является действие пуриновых производных аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) и аденозина, обладающих депрессивным действием на нервно-мышечную передачу (4). Поскольку как стероиды, так и пурины могут появляться в синаптической щели во время стрессовых реакций, представляло интерес выяснить, как взаимодействуют эти биогенные модуляторы на уровне пре- и постсинаптической мембраны мионеврального соединения. С этой целью в настоящем исследовании изучали влияние гидрокортизона и другого стероидного гормона дексаметазона на модулирующие эффекты АТФ и аденозина на объекте нервно-мышечный синапс лягушки.

Материалы и методы исследования

Эксперименты проводили на нервно-мышечном препарате седалищный нерв-портняжная мышца лягушек *Rana Ridibunda*. В части экспериментов для предотвращения сокращения мышцу рассекали (1), для регистрации миниатюрных токов использовали не рассеченную мышцу. В течение эксперимента через ванночку с находящимся в ней нервно-мышечным препаратом лягушки непрерывно перфузировали раствором следующего состава (в ммоль/л): NaCl - 115,0; KCl - 2,5; CaCl₂ - 1,8; NaHCO₃ - 11; pH раствора поддерживали на уровне 7,3. При парентеральном введении гидрокортизон (в виде водорастворимого сукцината, Hemofarm, Югославия, или растворимого в спирте ацетата, Gedeon Richter, Венгрия) инъецировали в лимфатический мешок из расчета 100

мг/кг веса ежедневно. Результаты, полученные с обоими препаратами гидрокортизона полностью совпали. В экспериментах *in vitro* использовали водорастворимый препарат гидрокортизона, который добавляли в физиологический раствор, омывающий мышцу. В последнем случае гидрокортизон находился в проточном растворе в ходе всего опыта. Отведение токов концевой пластинки для последующей компьютерной обработки производили в условиях двухэлектродной фиксации мембранного потенциала (4).

Результаты и их обсуждение

При парентеральном введении гидрокортизон в дозе 100 мг/кг в первые сутки увеличивал, а при ежедневном введении через 2 недели снижал амплитуду многоквантовых токов концевой пластинки (ТКП). Первоначальный эффект сопровождался устранением пресинаптического угнетающего эффекта АТФ на секрецию ацетилхолина. На поздней фазе подавления секреции гидрокортизоном АТФ вновь приобретал способность оказывать ингибиторное действие на секреторный процесс. Способность предотвращать пресинаптическое действие АТФ воспроизводилась при действии гидрокортизона на изолированный нервно-мышечный препарат, в концентрациях 1 μ М и 10 μ М, указывая на негеномную реализацию эффекта гормона. Гидрокортизон при всех способах введения не влиял на пресинаптическое угнетающее действие продукта гидролиза АТФ аденозина. Дексаметазон вводился за четыре часа, за сутки и за двое суток до эксперимента, тем же способом, из расчета 100 мг/кг. Было выявлено, что сам дексаметазон существенно не влияет на амплитуду ТКП, время роста мноквантовых токов и на постоянную времени спада. На первые и на вторые сутки, после инъекции, ингибиторное действие АТФ на секрецию медиатора, не снималось. Не снимался и эффект действия аденозина. Амплитуда ТКП к 15-ой минуте действия АТФ, составила $62 \pm 3\%$ ($n=4$, $p<0.05$), в случае одно дневной инъекции, и $36 \pm 5\%$ ($n=4$, $p<0.05$), в случае двух дневной. В случае четырех часовой инъекции эффект АТФ так же не исчез, амплитуда ТКП, к 15-ой минуте действия АТФ, составила $47 \pm 6\%$ от контрольных значений ($n=10$, $p<0.05$). При действии дексаметазона на изолированный нервно-мышечный препарат, наблюдалось, так же как и в пред идущих случаях, отсутствие эффекта снятия действия АТФ.

Главным результатом настоящего исследования является обнаружение нового феномена взаимодействия стероидного гормона гидрокортизона с внеклеточным пуриновым соединением АТФ. АТФ обладает способностью угнетать секрецию ацетилхолина из двигательных нервных окончаний через прямое взаимодействие с пуриноцепторами, относящимися к P2 типу (4). Дополнительный угнетающий эффект АТФ может быть достигнут за счет гидролиза АТФ до аденозина, который

также обладает способностью ингибировать секрецию через активацию P1 пуриноцепторов. Важно то, что АТФ выделяется из нервной терминали из синаптических пузырьков, содержащих ацетилхолин, а также из постсинаптической мембраны. Это позволяет рассматривать АТФ как потенциальный эндогенный модулятор, ограничивающий выделение трансмиттера по механизму отрицательной обратной связи.

Известно, что повышение концентрации кортикостероидов в крови является одним из компонентов стрессовой реакции организма, наряду с выделением адреналина из мозговой ткани надпочечников. В этой связи вполне закономерным является обнаружение именно облегчающего эффекта кортикостероида на квантовую секрецию трансмиттера, что аналогично действию на нервно-мышечный синапс катехоламинов. Это содружественное действие может обеспечивать эффективную мобилизацию нервно-мышечного аппарата.

Возникает вопрос, каким может быть механизм взаимодействия стероидов и АТФ на уровне пресинаптической мембраны? Быстрый эффект гидрокортизона и его реализация в изолированной мышце делает вполне вероятным предположение о том, что мишенью для взаимодействия АТФ и кортикостероида гидрокортизона являются фосфолипазы нервной терминали, контролирующие появление активных производных клеточных мембран, таких как инозитолтрифосфат, диацилглицерол и арахидоновая кислота.

В последнее время широкое распространение получает представление о том, что наряду с классическим эффектом через геном клетки, стероиды регулируют клеточные процессы через мембранные рецепторы. Наши эксперименты с парентеральным однократным или многократным введением гидрокортизона были своеобразной моделью острого и хронического стресса. Согласно такому представлению устранение пресинаптического ингибиторного действия АТФ наблюдалось только в "острую" фазу стресса после однократной инъекции гормона. Это сопровождалось облегчающим влиянием гидрокортизона на амплитуду синаптических токов, в отличие от длительного введения гидрокортизона, когда облегчающий эффект сменился снижением вызванных ответов. Предполагается, что более яркое устранение ингибиторного действия АТФ, гидрокортизоном, может быть одним из облегчающих компонентов острой стрессовой реакции, тогда как при хроническом стрессе стероидный гормон не способен предотвратить этот механизм отрицательной обратной связи. Отсутствие эффектов снятия обратимого угнетения амплитуды ТКП под действием АТФ, на фоне гидрокортизона, в случае дексаметазона, (при разных временных интервалах), предположительно говорит о разности в путях реализации биологического эффекта этих двух глюкокортикоидов.

Литература

1. Волкова И.Н., Никольский Е.Е., Полетаев Г.И. Блокирование потенциалов действия и сокращения скелетной мышцы лягушки поперечным рассечением // Физиол. журн. им.И.М.Сеченова. - 1975.- 61 (9).-С. 1433-1436.
2. Коркач В.И. Мембранный потенциал мышечных волокон под действием кортикотропина и гидрокортизона // Физиол. журн. им. И.М.Сеченова. 1991.- 37(6).-С. 95-99.
3. Braun S, Askanas V, Engel W.K, Ibrahim E.N. Long-term treatment with glucocorticoids increases synthesis and stability of junctional acetylcholine receptors on innervated cultured human muscle // J. Neurochem. 1993.- 60.-С. 1929-35.
4. Giniatullin R.A, Sokolova E.M. ATP and adenosine inhibit transmitter release at the frog neuromuscular junction through distinct presynaptic receptors // Br. J. Pharmacol. 1998.- 124.-С. 839-844.
5. Puro D.G. Glucocorticoid regulation of synaptic development // Brain Res. 1983.- 284(2-3).-С. 283-290.
6. Watson, C. S, Gametchu, B. Membrane-initiated steroid actions and the proteins that mediate them. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1999.- 220.- С. 9-19.

УЧАСТИЕ L-АРГИНИН-NO СИСТЕМЫ В АДАПТИВНЫХ РЕАКЦИЯХ ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ

Глебов А.Н., Мальцев А.Н., Зинчук В.В.

Государственный медицинский университет, г. Гродно

При окислительном стрессе происходит чрезмерное образование свободных радикалов и неспецифическое повреждение тканей, нерегулируемое механизмами антиоксидантной системы [Hensley K. et al., 2000]. Важный вклад в эту сложную иерархию антиоксидантной защиты вносит монооксид азота (NO), который является свободнорадикальной молекулой, способной взаимодействуя с супероксиданионом, образовывать пероксинитрит (мощный окислитель), а также может быть модификатором свойств гемоглобина. Образование NO, уникальной молекулы, выполняющей роль физиологического мессенджера, а в некоторых условиях цитотоксической эффекторной молекулы происходит из аминокислоты L-аргинина под контролем фермента NO-синтазы и ряда кофакторов (L-аргинин-NO система). При этом производные оксида азота (NO^+ , NO_2 , ONOO^- и другие) опосредуют повреждающие токсические эффекты в организме. Биохимия NO двулика: с